

Recebido em 14 de Dezembro de 1987

## Composição em alcalóides do parênquima e nervura de diferentes tipos de tabaco\*

por

M. GRAÇA LOURENÇO

Investigadora auxiliar do Instituto Superior de Agronomia

### RESUMO

Foram estudados vários tipos de tabaco quanto aos teores em alcalóides (nicotina, nornicotina, anabasina, anatabina, nicotirina e 2,3'-bipiridil)

Foi doseado um composto não identificado e que ocorre em quantidades significativamente mais altas nos tabacos do tipo "flue-cured".

### SYNOPSIS

The author has studied the amount of alkaloids nicotine, nornicotine, anabasine, anatabine, nicotyrine and 2,3'-bipyridyl in *laminae* and stems of different tobacco types. A non-identified constituent was determined. It is present in higher quantities in flue-cured tobacco.

---

\*Trabalho realizado com colaboração do Centro de Microbiologia e Indústrias Agrícolas, da Universidade Técnica de Lisboa.

## 1. INTRODUÇÃO

Os alcalóides constituem um dos grupos de compostos de maior importância no tabaco e no fumo. As condições ecológicas, as práticas culturais e as condições de cura a que as plantas do tabaco são submetidas têm grande influência no conteúdo em alcalóides nas folhas.

A caracterização das amostras de tabaco em função dos diferentes alcalóides assume interesse na taxonomia, na investigação da resistência a doenças e pragas e na tecnologia do tabaco. Reflete-se ainda nas relações directas ou indirectas, do tabaco com a saúde dos consumidores.

### 1.1. OS ALCALÓIDES NA PLANTA DO TABACO

Durante muito tempo considerou-se que os alcalóides principais do tabaco, eram específicos do género *Nicotiana*. Como excepções conhecia-se a presença de D- nornicotina na *Duboisia Hopwoodii* F. Muell (Solanáceas) e da anabasina na *Anabasis aphylla* L. (Quenopodiáceas).

O interesse que aqueles compostos têm vindo a assumir e os estudos a que, por esse facto, deram origem, vieram a demonstrar que a nicotina é um alcalóide relativamente vulgar, tendo já sido detectada em *Asclepias Syriacae* L., *Equisetum arvense* L., *Lycopodium flabelliforme* L. e outros *Lycopodium* (Marion, 1950).

A nicotina é o alcalóide normalmente mais abundante na grande maioria das espécies *Nicotiana*. Em certas espécies, porém, tem-se verificado que outros alcalóides, nomeadamente a nornicotina e a anabasina, aparecem como dominantes.

Recentemente Sisson e Severson (1984), ao debruçarem-se sobre a caracterização das espécies *Nicotiana* pela sua composição química, dosearam os principais alcalóides em 65 espécies do género *Nicotiana* e verificaram que:

- Todas as espécies estudadas continham nicotina e nornicotina, com a nicotina predominante em trinta e quatro espécies e a nornicotina em dezanove.
- A anabasina só não foi detectada em uma espécie e foi predominante em quatro.

- A anatabina foi detectada em 90% das espécies.
- A miosmina só foi detectada em cinco espécies.

## 1.2. PAPEL DOS ALCALÓIDES

A função que os alcalóides desempenham nas plantas não está ainda completamente esclarecida.

De acordo com os conhecimentos actuais, os alcalóides, conforme os autores, podem desempenhar papel importante no metabolismo, catabolismo e fisiologia das plantas, funcionar como estimuladores ou inibidores do crescimento, funcionar como substratos para a respiração, como reserva de azoto, como protectores das plantas em relação a pragas e doenças, ou até considerados como não exercendo nenhuma acção relevante, funcionando apenas como desperdícios, ou como processo de eliminação de compostos azotados cuja acumulação poderá ocasionar a intoxicação da planta. (Waller e Nowacki, 1978).

O efeito dos alcalóides como possíveis protectores das plantas em relação aos animais, fungos e parasitas é, em certa medida, controversa. A resistência do tabaco aos insectos é importante, não só por tornar a cultura mais económica mas também por obviar a presença de resíduos de pesticidas na folha, de efeitos prejudiciais no consumidor.

Gupton *et al* (1971) relacionaram os prejuízos causados por afídios e acrídios em tabaco Burley, com diferentes teores em nicotina, e verificaram que eles eram muito maiores nos tabacos com teores mais baixos de alcalóides.

Iskender (1975) procurou verificar, em diversas variedades de tabaco turco, se existiam correlações entre os alcalóides (totais e secundários) e a resistência ao míldio. Muito embora este autor não tivesse encontrado correlações significativas, verificou que as plantas com teores em alcalóides mais baixos eram mais atacadas pela doença.

Severson *et al* (1981), com o mesmo objectivo de relacionar o teor em alcalóides com a resistência das plantas aos insectos, nomeadamente ao "bud worm", um dos insectos mais prejudiciais a estas plantas, estudaram a composição em alcalóides de diferentes tabacos e não conseguiram encontrar qualquer relação entre

os factores estudados.

Passando da planta para o tabaco preparado, cabe aos alcalóides, especialmente à nicotina e seus derivados, o papel de maior significado na acção organoléptica e na toxicidade do fumo. São ainda os principais responsáveis pela habituação ao tabaco.

Acresce ainda que a influência dos alcalóides na saúde não advém unicamente da sua actuação directa no organismo, mas também da acção como precursores de outros compostos, nomeadamente as nitrosaminas, cuja acção cancerígena é hoje reconhecida como muito importante.

### 1.3. ALCALÓIDES PREDOMINANTES

A nicotina como alcalóide dominante, na maioria das espécies *Nicotiana*, é natural que seja o mais estudado. No entanto outros alcalóides como a nornicotina, anabasina e anatabina aparecem com teores apreciáveis.

Com o evoluir das técnicas analíticas foi possível identificar muitos alcalóides que até aí eram desconhecidos e proceder ao seu doseamento. Nos últimos anos não têm sido detectados alcalóides com estruturas gerais novas, muito embora se tenham descoberto novos alcalóides com estrutura derivada dos acima mencionados.

De acordo com o compilado por Lourenço, 1985, foram já detectados e identificados 47 alcalóides, quatro com estruturas derivadas da anabasina, três de anatabina, quinze da nornicotina, quatorze de estruturas diversas e oito de anéis geminados.

Além da nicotina os alcalóides mais estudados têm sido os outros mais abundantes ou seja a nornicotina, anabasina e anatabina. No entanto, como se pode verificar nos quadros 1 e 2, o estudo dos diferentes alcalóides não tem merecido uma grande preocupação dos investigadores.

Neste estudo procurou relacionar-se o conteúdo em alcalóides do parênquima e nervura de diferentes tipos de tabaco dado que na preparação dos "blends" tem o maior interesse a proporção relativa destas fracções (Bokelman e Ryan, 1985 e Lourenço, 1985).

**QUADRO 1**  
*Alcalóides em tabacos de diferentes tipos (em %)*

Alcalóides	Tipo de tabaco					Referências Bibliográficas
	"Flue-cured"	Burley	Maryland	Oriental	não especificado	
Anabasina	0.020 a 0.128	0.042	0.037 a 0.267		0.014 a 0.267	Jeffrey e Tao (1955)
		0.012 a 0.180			0.012 a 0.180	Townes e Sheen (1970)
					0 a 0.0065	Bush (1972)
		0.002 a 0.011			0.002 a 0.011	Sims et al. (1975)
					0.0305 a 0.0540	Davies et al. (1977)
	0.12				0.01 a 0.12	Burns e Collin (1977)
					0.001 a 0.112	Severson et al. (1981)
		0 a 0.40		0 a 0.08	0 a 0.40	Sisson e Saunders (1982)*
		0.00131		0.00375**	0.00131 a 0.00437	Matsushima et al. (1983)
		0.00437				
Anatabina		0.015 a 0.160			0.0035 a 0.0408	Bush (1972)
					0.015 a 0.160	Sims et al. (1975)
					0.0767 a 0.0964	Davies et al. (1977)
	0.33				0.05 a 0.33	Burns e Collin (1977)
					0.001 a 0.223	Severson et al. (1981)
	0 a 0.15	0 a 0.07		0 a 0.08	0 a 0.35	Sisson e Saunders (1982)*
	0.00058	0.00062		0.00005**	0.00058 a 0.00095	Matsushima et al. (1983)
Nicotina***	0.072 a 1.688	2.238	0.275 a 0.547		0.072 a 2.238	Jeffrey e Tao (1955)
		0.337 a 1.070			0.337 a 1.070	Townes e Sheen (1970)
					0.070 a 2.640	Bush (1972)
		0.67 a 4.10			0.67 a 4.10	Sims et al. (1975)
					2.086 a 3.952	Davies et al. (1977)
	0.04 a 0.16				1.15 a 5.02	Burns e Collin (1977)
		0.24 a 4.40		0 a 4.50	0.008 a 3.818	Severson et al. (1981)
					0 a 6.44	Sisson e Saunders (1982)*
Nornicotina	0.005 a 1.100	0.039	0.554 a 2.478		0.005 a 2.478	Jeffrey e Tao (1955)
		0.171 a 0.949			0.171 a 0.949	Townes e Sheen (1970)
					0.0393 a 4.7600	Bush (1972)
		0.023 a 0.273			0.023 a 0.273	Sims et al. (1975)
	0.20				0.0705 a 0.1120	Davies et al. (1977)
					0.09 a 0.20	Burns e Collin (1977)
					0.0002 a 5.110	Severson et al. (1981)
		0 a 3.06	0 a 1.57	0 a 4.27	0 a 4.27	Sisson e Saunders (1982)*

\* 1108 tabacos analisados; \*\* tabaco Basma; \*\*\* Referem-se apenas autores que dosaram diversos alcalóides.

**QUADRO 2**  
*Alcalóides no fumo de diferentes tipos de tabaco*  
*(mg/100 cig.)*

Alcalóides	Tipo de tabaco					Referências Bibliográficas
	"Flue-cured"	Burley	Maryland	Oriental	não especificado	
Anabasina	5.70	1.10	0.05	0.60	0.11 a 0.33 0.33 a 5.70 0.3 a 1.2 1.3 a 2.4*	Schmeltz et al. (1964) Wynder e Hoffmann (1967) Neurath (1960) Davis et al. (1977)
Anatabina					0.014 0.37 a 1.40 2.5 a 2.8*	Quin (1950) Neurath (1960) Davis et al. (1977)
Nicotina	350	450	290	330	200 a 450 180 a 300 340 a 404	Wynder e Hoffmann (1967) Neurath (1960) Davis et al. (1977)
Nornicotina	1.10	5.00	0.80	1.50	0.088 0.80 a 5.00 2.68 a 8.80 0.6 a 10.6*	Quin (1950) Wynder e Hoffmann (1967) Neurath (1960) Davis et al. (1977)

\* mg de alcalóides no condensado no fumo de 100g de tabaco fumado

## 2. PARTE EXPERIMENTAL

### 2.1. MATERIAL

O material em que incidiu este estudo é constituído por tabaco de diferentes tipos, recebido em forma de manocas, de folhas soltas e de "tabaco batido" (parênquima em pedaços), tal como é entregue na fábrica de manufatura de cigarros.

As amostras foram colhidas na fábrica da Tabaqueira, E. P. segundo a NP-2085(1983), entre os tabacos que estavam a ser utilizados na preparação dos diversos "blends" e que tinham origens geográficas e preparações tecnológicas diferentes.

O conjunto do material recolhido foi distribuído pelos seguintes tipos de tabaco: "flue-cured", Burley, Maryland, "dark air-cured" e oriental. As amostras compreendiam diversos grupos entre os tipos referidos.

Nas amostras recebidas sob a forma de manocas ou de folhas soltas procedeu-se à separação do parênquima das nervuras principais e secundárias. Nas amostras de tabaco batido e nas de tabaco tipo oriental não se procedeu a qualquer separação, uma vez que eram constituídas praticamente por parênquima e é assim que ele entra no fabrico.

As amostras foram submetidas a secagem em estufa ventilada, à temperatura de 50°C, durante cerca de 12 horas, passadas as quais, após arrefecimento, foram moídas em moinho do tipo Willey, de modo a que todo o material passasse pelo crivo de 0,250mm (60 "mesh"). As amostras foram guardadas em frascos com vedação hermética.

### 2.2. MÉTODOS

O método de determinação dos alcalóides consistiu essencialmente na sua extracção por uma solução aquosa alcalina, passagem para o solvente benzeno-clorofórmio e ulterior doseamento por cromatografia em fase gasosa (Lourenço, 1985).

## 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nos ensaios realizados, os alcalóides totais variaram entre 0,776 e 3,222% e entre 1,704 e 6,149% no parênquima, respectivamente, de tabacos "flue-cured" e Burley, situando-se entre 0,339 e 1,869% e entre 0,721 e 4,288% na nervura das folhas respectivas (quadro 3).

QUADRO 3

*Teores de alcalóides totais em amostras de diferentes tipos de tabaco*

Tipo de tabaco	Grupo	Alcalóides totais (%)					
		Parênquima			Nervura		
		N <sup>o</sup> amostras	min.-max.	Média	N <sup>o</sup> amostras	min.-max.	Média
"Flue-cured"	1	5	0,776-1,666	1,101	5	0,330-1,446	0,763
	2	1	2,326	2,326	1	1,158	1,158
	3	4	0,879-3,222	2,231	4	0,189-1,869	1,425
	4	2	2,002-2,457	1,229	2	0,534-1,836	1,185
	5	1	2,510	2,510	1	2,324	2,324
	Diversos	13	0,776-3,222	1,897	13	0,189-2,324	1,371
Burley	1	1	2,256	2,256	1	0,441	0,441
	2	3	1,704-4,492	2,703	3	0,721-0,983	0,839
	3	2	2,115-6,149	4,132	2	1,123-4,288	2,700
	4	-	-	-	-	-	-
	5	-	-	-	-	-	-
	Diversos	6	1,704-6,149	3,030	6	0,721-4,288	1,320
Maryland	2	2	1,201-1,460	1,335	2	0,608-0,760	0,684
"Dark air-cured"	Diversos	4	0,704-1,541	1,045	4	0,435-0,970	0,717
Oriental	Diversos	2	0,900-1,174	1,082	-	-	-

Os alcalóides secundários totais, doseados neste estudo, variaram entre 0,061 e 1,039%, no parênquima, e entre 0,009 e 0,508%, na nervura (quadro 4).

Nos quadros 5, 6, 7 e 8 apresentam-se os teores mínimos e máximos da nicotina, nornicotina, anabasina e anatabina nos tabacos estudados.



## QUADRO 4

*Teores de alcalóides secundários em amostras de diferentes tipos de tabacos*

Tipo de tabaco	Grupo	Alcalóides secundários (%)					
		Parênquima			Nervura		
		Nº amostras	min.-max.	Média	Nº amostras	min.-max.	Média
"Flue-cured"	1	5	0.072-0.146	0.099	5	0.019-0.120	0.069
	2	1	0.160	0.160	1	0.088	0.088
	3	4	0.089-0.200	0.144	4	0.009-0.152	0.115
	4	2	0.137-0.172	0.155	2	0.034-0.146	0.090
	5	1	0.190	0.190	1	0.184	0.184
	Diversos	13	0.072-0.200	0.151	13	0.009-0.152	0.100
Burley	1	1	0.246	0.246	1	0.031	0.031
	2	3	0.084-0.384	0.247	3	0.022-0.113	0.062
	3	2	0.275-1.039	0.657	2	0.093-0.508	0.301
	4	-	-	-	-	-	-
	5	-	-	-	-	-	-
	Diversos	6	0.084-1.039	0.383	6	0.022-0.508	0.131
Maryland	2	2	0.121-0.129	0.125	-	0.040-0.038	0.040
"Dark air-cured"	Diversos	4	0.061-0.094	0.072	4	0.039-0.055	0.047
Oriental	Diversos	2	0.064-0.070	0.067	-	-	-

## QUADRO 5

*Teores de nicotina em amostras de diferentes tipos de tabacos*

Tipo de tabaco	Grupo	Nicotina (%)					
		Parênquima			Nervura		
		Nº amostras	min.-max.	Média	Nº amostras	min.-max.	Média
"Flue-cured"	1	5	0.69-1.52	1.092	5	0.32-1.32	0.694
	2	1	2.16	2.160	1	1.07	1.070
	3	4	0.79-3.08	2.088	4	0.18-1.72	1.310
	4	2	1.92-2.32	2.120	2	0.50-1.69	1.095
	5	1	2.32	2.320	1	2.14	2.140
	Diversos	13	0.69-3.08	1.956	13	0.18-1.72	1.262
Burley	1	1	2.01	2.010	1	0.41	0.410
	2	3	1.53-4.22	2.457	3	0.67-0.87	0.777
	3	2	1.84-5.11	3.475	2	1.03-3.76	2.405
	4	-	-	-	-	-	-
	5	-	-	-	-	-	-
	Diversos	6	1.53-5.11	2.647	6	0.67-3.76	1.197
Maryland	2	2	1.08-1.34	1.210	2	0.55-0.72	0.635
"Dark air-cured"	Diversos	4	0.70-1.48	0.973	4	0.39-0.94	0.670
Oriental	Diversos	2	0.92-1.11	1.015	-	-	-

**QUADRO 6**  
*Teores de nornicotina em amostras de diferentes tipos de tabaco*

Tipo de tabaco	Grupo	Nornicotina (%)					
		Parequima			Nervura		
		Nº amostras	min.-max.	Média	Nº amostras	min.-max.	Média
"Flue-cured"	1	5	0.006-0.029	0.019	5	vest.-0.027	0.013
	2	1	0.029	0.029	1	0.013	0.013
	3	4	0.026-0.030	0.033	4	vest.-0.040	0.031
	4	2	0.024-0.053	0.039	2	0.003-0.038	0.021
	5	1	0.037	0.037	1	0.046	0.046
	Diversos	13	0.006-0.053	0.031	13	vest.-0.040	0.025
Burley	1	1	0.092	0.092	1	0.000	0.000
	2	3	0.028-0.278	0.119	3	0.005-0.072	0.032
	3	2	0.170-0.550	0.365	2	0.000-0.220	0.140
	4	-	-	-	-	-	-
	5	-	-	-	-	-	-
	Diversos	6	0.028-0.550	0.192	6	0.005-0.220	0.060
Maryland	2	2	0.057-0.058	0.058	2	0.018-0.030	0.024
"Dark air-cured"	Diversos	4	0.006-0.028	0.015	4	0.003-0.012	0.009
Oriental	Diversos	2	0.027-0.036	0.032	-	-	-

**QUADRO 7**  
*Teores de anabasina em amostras de diferentes tipos de tabacos*

Tipo de tabaco	Grupo	Anabasina (%)					
		Parequima			Nervura		
		Nº amostras	min.-max.	Média	Nº amostras	min.-max.	Média
"Flue-cured"	1	5	0.014-0.028	0.020	5	0.004-0.025	0.016
	2	1	0.033	0.033	1	0.010	0.010
	3	4	0.020-0.035	0.026	4	vest.-0.035	0.025
	4	2	0.024-0.033	0.029	2	0.011-0.038	0.025
	5	1	0.028	0.028	1	0.028	0.028
	Diversos	13	0.014-0.035	0.027	13	vest.-0.038	0.023
Burley	1	1	-	0.053	1	-	0.010
	2	3	0.013-0.063	0.039	3	0.007-0.023	0.016
	3	2	0.031-0.140	0.090	2	0.021-0.094	0.058
	4	-	-	-	-	-	-
	5	-	-	-	-	-	-
	Diversos	6	0.013-0.140	0.060	6	0.007-0.094	0.028
Maryland	2	2	0.023-0.024	0.024	2	0.008-0.015	0.012
"Dark air-cured"	Diversos	4	0.009-0.023	0.015	4	0.009-0.024	0.015
Oriental	Diversos	2	0.014-0.016	0.015	-	-	-

## QUADRO 8

*Teores de anatabina em amostras de diferentes tipos de tabacos*

Tipo de tabaco	Grupo	Anatabina (%)					
		Parênquima			Nervura		
		Nº amostras	min.-max.	Média	Nº amostras	min.-max.	Média
"Flue-cured"	1	5	0.046-0.069	0.050	5	0.015-0.80	0.040
	2	1	0.104	0.104	1	0.056	0.056
	3	4	0.042-0.126	0.084	4	0.009-0.084	0.059
	4	2	0.086-0.089	0.088	2	0.020-0.070	0.045
	5	1	0.125	0.125	1	0.110	0.110
	Diversos	13	0.042-0.120	0.090	13	0.009-0.084	0.062
Burley	1	1	0.101	0.101	1	0.012	0.012
	2	3	0.043-0.157	0.088	3	0.010-0.018	0.015
	3	2	0.065-0.340	0.203	2	0.012-0.104	0.103
	4	-	-	-	-	-	-
	5	-	-	-	-	-	-
	Diversos	6	0.043-0.157	0.131	6	0.010-0.194	0.043
Maryland	2	2	0.040-0.048	0.044	2	0.013-0.014	0.014
"Dark air-cured"	Diversos	4	0.020-0.071	0.042	4	0.013-0.043	0.023
Oriental	Diversos	2	0.020-0.021	0.021	-	-	-

Além dos alcalóides mencionados, pesquisou-se ainda a nicotina e o 2,3'-bipiridil que aparecem em quantidades sempre inferiores a 0,01% e, portanto, se consideram vestigiais (quadros 9 e 10).

## QUADRO 9

*Teores de nicotina em diferentes tipos de tabaco*

Valores limites (%)		
Tipo de tabaco	Parênquima	Nervura
"Flue-cured"	0-vest.	0-vest.
Burley	0-0.011	0-0.006
Maryland	0	0
"Dark air-cured"	0	0
Oriental	0	-

## QUADRO 10

*Teores de 2,3'-bipiridil em diferentes tipos de tabaco*

Valores limites (%)		
Tipo de tabaco	Parênquima	Nervura
"Flue-cured"	0-0,007	0-0,010
Burley	0-vest.	0-0,006
Maryland	0	0
"Dark air-cured"	0-vest.	0-vest.
Oriental	vest.	-

## QUADRO 11

*Composição em alcalóides dos tipos de tabacos estudados (em %) - limites de variação -*

Constituintes	p	"Flue-cured"	Burley	Maryland	"Dark air-cured"	Oriental
	n	min.-máx.	min.-máx.	min.-máx.	min.-máx.	min.-máx.
Alc. totais	p	0,776-3,222	1,704-6,140	1,201-1,469	0,794-1,541	0,990-1,174
	n	0,180-2,324	0,721-4,288	0,608-0,760	0,435-0,970	-
Alc. sec.	p	0,072-0,200	0,084-1,030	0,121-0,120	0,061-0,096	0,064-0,070
	n	0,000-0,152	0,022-0,508	0,040-0,058	0,030-0,055	-
Nicotina	p	0,60-3,08	1,53-5,11	1,08-1,34	0,70-1,48	0,92-1,11
	n	0,18-1,72	0,67-3,78	0,55-0,72	0,39-0,94	-
Normicotina	p	0,006-0,053	0,028-0,550	0,057-0,058	0,006-0,028	0,027-0,036
	n	vest.-0,049	0,005-0,220	0,018-0,030	0,003-0,012	-
Anabacina	p	0,014-0,035	0,013-0,140	0,023-0,024	0,009-0,023	0,015
	n	vest.-0,038	0,007-0,094	0,008-0,015	0,000-0,024	-
Anatabina	p	0,042-0,126	0,043-0,157	0,040-0,048	0,020-0,071	0,020-0,021
	n	0,000-0,084	0,010-0,194	0,013-0,014	0,013-0,043	-
D <sub>2</sub>	p	0,016-0,048	0,011-0,039	0,007-0,013	0,007-0,016	0,021
	n	0,014-0,047	0,010-0,013	0,009	0,014-0,027	-

p - parênquima; n - nervura; D<sub>2</sub> - composto não identificado

No quadro 11 indicam-se os limites de variação dos compostos doseados nos diferentes tipos de tabaco e no quadro 12 os diversos alcalóides expressos em percentagem de alcalóides totais.

### QUADRO 12

*Proporções dos alcalóides individuais  
(em % do total)*

Alcalóides	p n	"Flue-cured" min.-máx.	Burley min.-máx.	Maryland min.-máx.	"Dark air-cured" min.-máx.	Oriental min.-máx.
Nicotina	p	88.92-95.60	79.94-95.07	89.93-91.22	88.16-96.04	92.93-94.55
	n	89.00-95.24	88.15-97.29	90.46-94.74	89.66-96.02	-
Alc. sec.	p	4.41-11.08	4.93-20.06	8.78-10.07	3.96-11.84	5.45-7.07
	n	4.76-11.09	2.71-11.85	5.26-9.54	3.96-10.34	-
Normicotina	p	0.42-2.06	1.16-14.52	3.88-4.83	0.66-3.01	2.89-3.64
	n	vest.-2.77	0.62-7.32	2.37-4.93	0.46-2.76	-
Anabacina	p	0.62-2.45	0.76-2.42	1.63-1.92	0.99-2.47	1.36-1.41
	n	1.16-3.88	0.86-2.36	1.05-2.47	1.37-3.01	-
Anabatina	p	2.73-5.98	2.52-5.53	3.27-3.33	2.01-5.04	1.70-2.02
	n	3.75-5.78	1.06-4.52	1.84-2.14	1.53-6.56	-

p - parênquima; n - nervura

Com a apresentação destes quadros pretende-se facilitar a análise global dos resultados.

Recorreu-se ainda a uma análise de variância, para verificar se as diferenças entre os teores de compostos doseados nos tipos de tabaco "flue-cured" e Burley e os do parênquima e da nervura diferiam significativamente entre si. (quadros 13 e 14).

Em relação às determinações efectuadas nos tabacos dos tipos Maryland, "dark air-cured" e oriental não se utilizou a análise de variância, porque o número de amostras destes tabacos não foi considerado estatisticamente representativo.

QUADRO 13

Análise de variância dos alcalóides totais e alcalóides secundários determinados no parênquima (p) e nervura (n) de tabacos tipo "flue-cured" (F) e Burley (B)

		"Flue-cured" (p e n)	Burley (p e n)	Parênquima (F e B)	Nervura (F e B)
média resultados (em %)	Alcalóides totais	1.524	2.251	2.258	1.249
	Alcalóides secundários	0.115	0.260	0.212	0.109
Número determinações	Alcalóides totais	26	12	10	10
	Alcalóides secundários	26	12	10	10
F	Alcalóides totais	3.60	10.04** 7.05*		
	Alcalóides secundários	7.34*			
F int.	Alcalóides totais	1.85			
	Alcalóides secundários	3.86			

\*\* significativo ao nível de 1 % \* significativo ao nível de 5 %

QUADRO 14

Análise de variância de diversos alcalóides determinados no parênquima (p) e nervura (n) de tabacos tipo "flue-cured" (F) e Burley (B)

		"Flue-cured" (p e n)	Burley (p e n)	Parênquima (F e B)	Nervura (F e B)
média resultados  (em %)	Nicotina	1.400	1.000	2.045	1.140
	Nornicotina	0.0254	0.130	0.0815	0.0355
	Anabasina	0.0230	0.0436	0.0356	0.0234
	Anatabina	0.0073	0.0860	0.1374	0.0502
Número determinações	Nicotina	26	12	10	10
	Nornicotina	26	12	10	10
	Anabasina	26	12	10	10
	Anatabina	26	12	10	10
F	Nicotina	2.09		0.87**	
	Nornicotina	13.30**		5.81*	
	Anabasina	6.23*		4.21*	
	Anatabina	0.05		2.03	
F int.	Nicotina		1.47		
	Nornicotina		4.84*		
	Anabasina		2.45		
	Anatabina		1.35 x 10 <sup>-3</sup>		

\*\* significativo ao nível de 1 % \* significativo ao nível de 5 %

Pelo cálculo de  $r$  (coeficiente de correlação), procurou-se ainda concluir se os diferentes alcalóides, os alcalóides secundários totais e os alcalóides totais estariam ou não significativamente correlacionados entre si. (quadros 15 e 16).

É frequente identificarem-se os alcalóides do tabaco com a nicotina, por ser este alcalóide grandemente maioritário. Com efeito, nestes ensaios, a nicotina representou entre 79,94 e 96,04% e entre 88,15 e 97,29% dos alcalóides totais, respectivamente no parênquima e na nervura. A percentagem dos alcalóides secundários em relação aos alcalóides totais foi, respectivamente, de 3,96 a 20,06% e de 2,71 a 11,85% no parênquima e na nervura dos tabacos estudados (quadro 12).

A análise de variância (quadro 13) permite afirmar que as diferenças entre os níveis de alcalóides totais em tabacos dos tipos "flue-cured" e Burley não são significativas. São-no, porém, as diferenças entre os teores de alcalóides secundários nos mesmos tabacos. No parênquima e na nervura de folhas dos mesmos tipos existem diferenças significativas quanto aos teores em alcalóides totais e em alcalóides secundários.

Ainda nos mesmos tabacos, verifica-se que tanto os alcalóides totais como os alcalóides secundários totais estão correlacionados positiva e significativamente com os alcalóides doseados individualmente. Faz exceção a esta regra o parênquima de tabacos do tipo Burley, no qual não foi encontrada correlação significativa entre os alcalóides totais e a nornicotina (quadros 15, 16).

As amostras com teores mais elevados de nornicotina foram as de Burley, cujo quantitativo se situa entre 1,16 e 14,52% (referido ao total de alcalóides). Nos restantes tipos, a nornicotina situa-se entre 0,42 e 4,83% do total de alcalóides.

Recorde-se a importância da nornicotina nas características do fumo, comprometendo as suas qualidades sápidas. Na indústria, são considerados aceitáveis os tabacos com teores de nornicotina entre 5-8%, dos alcalóides totais.

## QUADRO 15

*Coefficientes de correlação (r) significativos entre os alcalóides doseados em tabacos tipo "flue-cured"*

## Pareênquima

	AT	Ni	AS	Nr	An	At	D <sub>2</sub>
AT	1	*** 0.900	*** 0.796	** 0.564	* 0.517	*** 0.827	
Ni		1	*** 0.774	* 0.544	- 0.401	*** 0.800	
AS			1	*** 0.704	*** 0.874	*** 0.954	
Nr				1	*** 0.770	** 0.588	
An					1	*** 0.752	
At						1	
D <sub>2</sub>							1

## Nervura

	AT	Ni	AS	Nr	An	At	D <sub>2</sub>
AT	1	*** 0.900	*** 0.985	*** 0.953	*** 0.854	*** 0.967	
Ni		1	*** 0.982	*** 0.960	*** 0.840	*** 0.966	
AS			1	*** 0.971	*** 0.808	*** 0.960	
Nr				1	*** 0.904	*** 0.806	
An					1	*** 0.776	
At						1	
D <sub>2</sub>							1

AT - alcalóides totais (GSL); Ni - nicotina; AS - alcalóides secundários; Nr - nor-nicotina; An - anabasina; At - anatabina; D<sub>2</sub> - composto não identificado.

\* significativo ao nível de 10%;

\*\* significativo ao nível de 5%;

\*\*\* significativo ao nível de 1%.



## QUADRO 16

*Coefficientes de correlação (r) significativos entre os alcalóides doseados em tabacos tipo Burley*

## Parênquima

	AT	Ni	AS	Nr	An	At	D <sub>2</sub>
AT	1	*** 0.992	** 0.921		*** 0.924	*** 0.963	** 0.841
Ni		1	* 0.774		** 0.875	*** 0.926	* 0.776
AS			1	*** 0.937	*** 0.954	*** 0.921	*** 0.958
Nr				1	** 0.830	* 0.769	** 0.862
An					1	*** 0.974	*** 0.974
At						1	*** 0.953
D <sub>2</sub>							1

## Nervura

	AT	Ni	AS	Nr	An	At	D <sub>2</sub>
AT	1	*** 0.999	*** 0.992	*** 0.971	*** 0.999	*** 0.987	
Ni		1	*** 0.989	*** 0.967	*** 0.987	*** 0.986	
AS			1	*** 0.987	*** 0.998	*** 0.986	
Nr				1	*** 0.988	*** 0.947	
An					1	*** 0.987	
At						1	
D <sub>2</sub>							1

AT - alcalóides totais (OGL); Ni - nicotina; AS - alcalóides secundários; Nr - nor-nicotina; An - anabasina; At - anatabina; D<sub>2</sub> - composto não identificado  
 \* significativo ao nível de 10%;  
 \*\* significativo ao nível de 5%;  
 \*\*\* significativo ao nível de 1%

A análise da variância (quadro 14) mostra que os tabacos "flue-cured" e Burley são significativamente diferentes no que respeita aos teores em nornicotina e anabasina, não o sendo relativamente à nicotina e à anatabina.

Os teores de nicotina, nornicotina e anabasina são significativamente diferentes na nervura e no parênquima. Os resultados referentes à anatabina não são significativamente diferentes, apresentando uma grande dispersão.

Nos ensaios de separação, identificação e doseamento dos alcalóides surgiram outros componentes cuja identificação não se efectuou por transcender os limites do presente trabalho. Tais compostos foram então referenciados por  $D_1$ ,  $D_2$ ,  $D_3$ ,  $D_4$  e  $D_5$  (Lourenço, 1985). Tendo-se procedido ao seu doseamento, todos revelaram teores inferiores a 0,01%, com excepção de  $D_2$ .

No quadro 17 refere-se o intervalo de variação de  $D_2$ , nos diferentes tipos de tabaco estudados: Assim:

- nos tabacos "flue-cured",  $D_2$  apresentou-se em teores mais elevados e muito próximos dos correspondentes à nornicotina e anabasina (quadros 6 e 7);
- nos tabacos Burley e Maryland,  $D_2$  foi doseado em quantidades inferiores às dos diferentes alcalóides;
- nos tabacos "dark air-cured" e oriental os teores de  $D_2$  e de anatabina foram semelhantes.

A análise de variância (quadro 18) permite concluir que os teores de  $D_2$  são significativamente diferentes nos tabacos dos tipos "flue-cured" e Burley, mas não são significativas as diferenças entre o mesmo constituinte no parênquima e na nervura.

Considera-se o maior interesse, em futuro trabalho, a identificação de  $D_2$ , não só porque aparece em teores consideráveis, mas também porque existem diferenças entre os diversos tipos de tabaco quanto aos teores deste componente.

Em face dos elementos colhidos na revisão bibliográfica, admite-se que este composto possa ser o que Burns e Collin (1977) detectaram e atribuíram a possível impureza do metanol. Também por Matsushima *et al* (1983) foi doseado e estudado por técnicas

QUADRO 17

*Teores de D<sub>2</sub> em amostras de diferentes tipos de tabacos*

Tipo de tabaco	Grupo	Anatabina (%)					
		Parênquima			Nervura		
		N <sup>o</sup> amostras	min.-max.	Média	N <sup>o</sup> amostras	min.-max.	Média
"Flue-cured"	1	5	0.023-0.048	0.034	5	0.023-0.047	0.032
	2	1	0.29	0.029	1	0.027	0.027
	3	4	0.016-0.036	0.027	4	0.014-0.037	0.027
	4	2	0.020-0.032	0.026	2	0.015-0.025	0.020
	5	1	0.035	0.035	1	0.034	0.034
	Diversos	13	0.016-0.048	0.030	13	0.014-0.047	0.028
Burley	1	1	0.018	0.018	1	0.005	0.005
	2	3	0.011-0.015	0.014	3	0.011-0.013	0.012
	3	2	0.011-0.039	0.025	2	0.010-0.012	0.011
	4	-	-	-	-	-	-
	5	-	-	-	-	-	-
	Diversos	6	0.011-0.039	0.019	6	0.010-0.013	0.009
Maryland	2	2	0.007-0.013	0.010	2	-	0.009
"Dark air-cured"	Diversos	4	0.007-0.016	0.014	4	0.014-0.027	0.020
Oriental	Diversos	2	-	0.021	-	-	-

QUADRO 18

*Análise de variância do componente não identificado D<sub>2</sub> determinado no parênquima (p) e nervura (n) de tabacos tipo "flue-cured" (F) e Burley (B)*

	"Flue-cured" (p e n)	Burley (p e n)	Parênquima (F e B)	Nervura (F e B)
média resultados (em %)	0.0292	0.0143	0.0264	0.0226
Número determinações	26	12	10	10
F	23.49**		2.63	
F int.	0.89			

\*\* significativo ao nível de 1 %

de CGL, EIV, EM, e RMN. Estes últimos autores levantam a hipótese de se tratar de um composto ainda não identificado ou um produto de condensação da nicotina e da cotinina. Este composto não identificado foi doseado em maiores quantidades nos tabacos tipo "flue-cured", o que é concordante com os teores doseados de  $D_2$ .

#### 4. CONCLUSÕES

A nicotina representou de 80 a 96% dos alcalóides totais nas amostras estudadas.

Estabelecendo comparações entre os alcalóides secundários nos vários tipos de tabaco, verifica-se que:

- nos "flue-cured" a anatabina é o mais abundante, seguindo-se a nornicotina e anabasina, em teores semelhantes;
- nos Burley, Maryland e Oriental é a nornicotina o dominante, seguido de anatabina e anabasina, por esta ordem;
- nos "dark air-cured" é a anatabina o mais abundante.

Realça-se a importância da detecção do composto referenciado por  $D_2$  doseado em quantidades variáveis com o tipo de tabaco. Nos "flue-cured" foram doseados os teores mais elevados, sendo significativamente mais altos que os encontrados nos Burley.

#### BIBLIOGRAFIA

- 1 - BURNS, D.T.; COLLIN, E. J. — Rapid determination of certain alkaloids, other than nicotine, in tobacco. *J. Chromatogr.*, 133, 1977:378-381.
- 2 - BUSH, L.P. — Quantitative analysis of tobacco alkaloids by gas chromatography. *J. Chromatogr.*, 73, 1972:243-247.
- 3 - DAVIS, D.L. *et al.* — Transfer of exogenously applied and endogenous alkaloids and sterols from tobacco to its smoke condensate. *J. Agric. Food Chem.*, 25(4), 1977:752-756.
- 4 - GUPTON; C.L. *et al.* — Relation of damage by insects to nicotine

- content in Burley tobacco. *Tob. Sci.*, 15, 1971:71.
- 5 - ISKENDER, G. — Determination of alkaloids in turkish tobacco resistant to mildew. *Istambul Univ. ECZACILIK Fac. Meam.*, 11(1), 1975:27-37. (*Tob. Abst.*, 391, 1976).
- 6 - JEFFREY, R.N.; TSO, T.C. — Qualitative differences in alkaloid fraction of cured tobaccos. *Agric. Food Chem.*, 3(8), 1955:680-682.
- 7 - LOURENÇO, M.G. — Composição química do tabaco. Os alcalóides como precursores de nitrosaminas. Dissertação apresentada ao ISA para prestação de provas de acesso à categoria de Investigador Auxiliar, 1985.
- 8 - MARION, L. — The pyridine alkaloids In: the alkaloids-chemistry and physiology. MANSKE, R.H.F.; HOLMES, H.L. (ed.), vol. I, 1950.
- 9 - MATSUSHIMA, S. *et al.* — Composition of trace alkaloids in tobacco leaf lamina. *Agric. Biol. Chem.*, 47(3), 1983:507-510.
- 10 - NEURATH, G. — Stickstoffverbindungen des Tabakrauches. *Beitr. Tabakforsch.*, 5(3), 1969:115-133.
- 11 - NP-2085(1983) — Tabaco e produtos da indústria do tabaco. Colheita das amostras do tabaco como matéria prima. Regras Gerais. Lisboa, Dir. Geral de Qualidade.
- 12 - QUIN, L.D. — Alkaloids of tobacco smoke. I. Fractionation of some tobacco alkaloids and of the alkaloid extract of Burley cigarette smoke by gas chromatography. *J. Org. Chem.*, 24, 1959:911-914.
- 13 - SCHMELTZ, I. *et al.* — Composition studies on tobacco. XX-Bases of cigarette smoke. *J. Sci. Food Agric.*, 15, 1964:774-781.
- 14 - SEVERSON, R.F. *et al.* — Rapid method for the analysis of tobacco nicotine alkaloids. *J. Chromatogr.*, 211, 1981:111-121.
- 15 - SIMS, J.L. *et al.* — Effects of nitrogen fertilization and stalk position on certain chemical and physical characteristics of three tobacco genotypes. *Can. J. Plant. Sci.*, 55, 1975:485-490.
- 16 - SISSON, V.A.; SAUNDERS, J.A. — Alkaloid composition of the USDA tobacco (*Nicotiana tabacum* L.). Introduction collection. *Tob. Sci.*, 32, 1982:117-120.
- 17 - SISSON, V.A.; SEVERSON, R.F. — Alkaloids composition of the *Nicotiana* species. Tobacco Research Laboratory, USDA-ARS, Oxford, NC 27565 and Tobacco Safety Research Unit.

USDA-ARS, Athens, GA 30613. 38<sup>th</sup> Tob. Chem. Res. Conf., Atlanta, Georgia, Nov. 5-8, 1984, *Abstracts*.

- 18 - TOWNES, B.I.; SHEEN, S.J. — Changes of alkaloid composition during curing in three isogenic Burley tobaccos and their F<sub>1</sub> hybrids, *Beitr. Tabakforsch.*, 5(6), 1970:279-284.
- 19 - WALLER, G.R.; NOWACKI, E. — Alkaloid biology and metabolism in plants. New York and London, Plenum Press, 1978, 294 p.
- 20 - WYNDER, E.L.; HOFFMAN, D. — Tobacco and tobacco smoke. Studies in experimental carcinogenesis. New York and London, Academic Press, 1967, 730p.

As referências bibliográficas apresentadas foram elaboradas de acordo com a norma ISO 650(1975) - Documentation-Bibliographical references - Essencial and supplementary elements.